

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO
JEQUITINHONHA E MUCURI - UFVJM**

Fabício de Oliveira

**TRIAGEM DA ATIVIDADE ANTITUMORAL E ANTIMICROBIANA DE PLANTAS
NATIVAS DO CERRADO DA REGIÃO DE DIAMANTINA – VALE DO
JEQUITINHONHA/MINAS GERAIS**

**DIAMANTINA - MG
2016**

Fabício de Oliveira

**TRIAGEM DA ATIVIDADE ANTITUMORAL E ANTIMICROBIANA DE PLANTAS
NATIVAS DO CERRADO DA REGIÃO DE DIAMANTINA - VALE DO
JEQUITINHONHA/MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração em Ciências Farmacêuticas para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Helen Rodrigues Martins
Co-orientador: Prof. Dr. Luíz Elídio Gregório

**DIAMANTINA - MG
2016**

Ficha Catalográfica - Sistema de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecária: Jullyele Hubner Costa CRB-6/2972

O48t
2016 Oliveira, Fabrício de.
 Triagem da atividade antitumoral e antimicrobiana de plantas
 nativas do Cerrado da região de Diamantina - Vale do
 Jequitinhonha/Minas Gerais / Fabrício de Oliveira. – Diamantina :
 UFVJM, 2016.
 275 p. :il.
 Orientadora: Profa. Dra. Helen Rodrigues Martins
 Coorientador: Prof. Dr. Luiz Elídeo Gregório
 Dissertação (mestrado) –Universidade Federal dos Vales do
 Jequitinhonha e Mucuri. Programa de Pós-Graduação em Ciências
 Farmacêuticas, 2016.
 1. Plantas. 2. Atividade leishmanicida. 3. Atividade tripanocida. 4.
 Atividade antitumoral. 5. Atividade antibacteriana I. Martins, Helen
 Rodrigues. II. Gregório, Luiz Elídeo. III. Título.

CDD 615.321

Elaborada com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Fabício de Oliveira

**TRIAGEM DA ATIVIDADE ANTITUMORAL E ANTIMICROBIANA DE PLANTAS
NATIVAS DO CERRADO DA REGIÃO DE DIAMANTINA – VALE DO
JEQUITINHONHA/MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas *Stricto Sensu* da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Helen Rodrigues Martins

Data de aprovação: ____/____/____

Prof. Dr. Gustavo Eustáquio Brito Alvim de Melo
Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde - UFVJM

Prof. Dr. Fernando Armini Ruela
Faculdade de Ciências Exatas - UFVJM

Prof. Dr^ª. Helen Rodrigues Martins
Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde - UFVJM

Diamantina

Dedico este trabalho aos meus pais Valdilon e Simone, meu suporte, grande exemplo de perseverança, força, fé, paciência, coragem, humildade e bondade. Sempre estiveram presentes em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado forças, persistência e coragem na busca e conquista deste sonho, por ser meu protetor e meu guia, pelas oportunidades colocadas em meu caminho e, principalmente, pela sabedoria e perseverança em todos os momentos.

Agradeço aos meus pais Valdilon e Simone, por sempre me apoiarem e, serem meu suporte, exemplo de vida e por dedicarem tanto amor e compreensão a mim.

Aos meus irmãos Fabiana e Samuel pelo companheirismo, paciência e apoio.

Aos meus avós Ricardo e Maria, que mesmo distantes sempre me colocaram em suas orações.

À minha orientadora Prof^ª. Dr^a. Helen Rodrigues Martins pela oportunidade, sabedoria e confiança em meu trabalho, pelos ensinamentos transmitidos ao longo desses anos e por contribuir para o meu crescimento profissional e pessoal.

Ao Prof. Dr. Luíz Elídio Gregório pela coorientação, pela atenção, tempo e dedicação prestados; pelo conhecimento transmitido e pelo apoio para realização de parte desse trabalho.

A todos os amigos do laboratório de Parasitologia e Labimuno, em especial a Kelly e Fâmyla pela paciência, pelos ensinamentos e pela imensa ajuda ao longo desses dois anos, me auxiliando no desenvolvimento e realização dos experimentos! Meu imenso agradecimento!

A todos colegas do mestrado pela amizade e apoio.

A todos que contribuíram para realização deste trabalho.

"Quem passou pela vida em branca nuvem,
E em plácido repouso adormeceu;
Quem não sentiu o frio da desgraça,
Quem passou pela vida e não sofreu;
Foi espectro de homem, não foi homem,
Só passou pela vida, não viveu."

Francisco Otaviano de Almeida Rosa

RESUMO

O uso de plantas com fins terapêuticos é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. O Brasil hospeda aproximadamente 20% de toda biodiversidade mundial e concentra o maior número de espécies endêmicas do mundo. As plantas medicinais representam uma promissora fonte de novas drogas, sendo que a região do Cerrado se destaca neste contexto devido a sua vasta biodiversidade. Apesar de sua importância, as plantas endêmicas desse bioma são ainda pouco exploradas. Assim, o país necessita de maiores investimentos em pesquisas com plantas medicinais, especialmente quando se tratam de doenças cujo arsenal terapêutico é limitado e/ou apresenta restrições como eficácia e efeitos colaterais, como é o caso do câncer, doenças negligenciadas como a Doença de Chagas e as Leishmanioses e, doenças infecciosas causadas por bactérias. Desta forma, este estudo propõe uma triagem de atividades biológicas de extratos etanólicos de 20 plantas do Cerrado. Foram avaliados 24 extratos etanólicos das plantas da região de cerrado de Diamantina, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais: *Agarista oleifolia* (partes aéreas), *Ageratum fastigiatum* (partes aéreas), *Byrsonima dealbata* (partes aéreas), *Byrsonima lancifolia* (folhas e caule), *Byrsonima verbascifolia* (partes aéreas), *Croton antisiphiliticus* (caule), *Gomphrena arborescens* (partes aéreas), *Gomphrena scapigera* (partes aéreas), *Gomphrena vaga* (caule), *Gomphrena virgata* (raízes), *Kielmeyera lathrophyton* (folhas e caule), *Kielmeyera rubriflora* (partes aéreas), *Lafoensia pacari* (folhas e caule), *Myrsine emarginella* (folhas), *Norantea adamantium* (partes aéreas), *Qualea dichotoma* (partes aéreas), *Salvertia convallariodora* (folhas e caule), *Schefflera macrocarpa* (folhas), *Vochysia elliptica* (partes aéreas) e *Zeyheria Montana* (partes aéreas). Estes foram obtidos por meio de maceração e secagem por rotaevaporação. A toxicidade para células normais de mamíferos foi avaliada utilizando fibroblastos de camundongo, linhagem L929. A avaliação das atividades antitripanossomatídeos foi realizada sobre formas promastigotas das cepas BH46 de *Leishmania (leishmania) infantum*, M2269 de *Leishmania (leishmania) amazonensis* e contra formas epimastigotas das cepas Y e Colombiana de *Trypanosoma cruzi*. A atividade antitumoral foi realizada sobre a linhagem MDA-MB-231. A avaliação da toxicidade sobre as linhagens celulares foi realizada por meio da técnica colorimétrica de MTT. A atividade antibacteriana foi avaliada sobre as espécies *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes* e *Pseudomonas aeruginosa* por meio da técnica da resazurina. Na avaliação *in vitro* da atividade biológica dos extratos etanólicos foi verificado que todos os extratos demonstraram alguma toxicidade sobre células normais de

mamíferos da linhagem L929. Entre os extratos avaliados 22 apresentaram atividade antitumoral, sendo que o mais ativo foi o de *Ageratum fastigiatum* (partes aéreas). Atividade tripanocida foi verificada para sete extratos sobre a cepa Y e oito sobre a cepa Colombiana, sendo que dentre estes os extratos das partes aéreas de *Ageratum fastigiatum* e das partes aéreas *Zeyheria montana* foram os mais ativos sobre a cepa Colombiana de *T. cruzi*. Atividade leishmanicida foi verificada para 11 extratos sobre a cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e três sobre a cepa BH46 de *Leishmania infantum*, sendo que o mais ativo foi o extrato das partes aéreas de *Ageratum fastigiatum*. Atividade antibacteriana foi identificada para 11 extratos, os mais ativos foram o de *Ageratum fastigiatum* (partes aéreas) e *Byrsonima lancifolia* (folhas), sendo que a bactéria mais susceptível, por ser inibida pelo maior número de extratos avaliados, foi *S. aureus* (9 extratos) e a menos susceptível foi *S. agalactiae* (1 extrato). A partir dos resultados obtidos, sugere-se que os extratos etanólicos das partes aéreas de *Ageratum fastigiatum* e *Zeyheria montana* são os mais promissores para prosseguimento dos estudos, representando uma potencial fonte de substâncias com atividade antitripanossomatídeo e antitumoral, e os extratos de *Ageratum fastigiatum* (partes aéreas) e *Byrsonima lancifolia* (folhas) como antibacteriana, sendo necessária a realização do fracionamento destes extratos a fim de identificar as substâncias responsáveis por tais atividades e pela citotoxicidade.

Palavras-chave: Plantas; atividade leishmanicida; atividade tripanocida; atividade antitumoral; atividade antibacteriana.

ABSTRACT

The use of plants for therapeutic purposes is one of the oldest forms from medical practice to mankind. The Brazil accommodate approximately 20% of all global biodiversity and concentrate the largest number of endemic species in the world. Medicinal plants represent a promising source of new drugs, where the Cerrado region stands out for its large biodiversity. Even though the importance, the endemic plants of this region are yet little explored. So the country needs more investment in research with medicinal plants, especially in situations where the therapeutic arsenal is limited and/or shows restriction like efficacy and side effects, such as cancer, neglected diseases (leishmaniosis and Chagas' disease) and inflammation diseases caused by bacterias. Therefore, the study consider a screening test of 24 ethanol extracts from 20 plants of Cerrado from Diamantina, Valley Jequitinhonha, Minas Gerais, state about its biological activity: *Agarista oleifolia* (aerial parts), *Ageratum fastigiatum* (aerial parts), *Byrsonima dealbata* (aerial parts), *Byrsonima lancifolia* (leaves and stems), *Byrsonima verbascifolia* (aerial parts), *Croton antisiphiliticus* (stems), *Gomphrena arborescens* (aerial parts), *Gomphrena scapigera* (aerial parts), *Gomphrena vaga* (stems), *Gomphrena virgata* (roots), *Kielmeyera lathrophyton* (leaves and stems), *Kielmeyera rubriflora* (aerial parts), *Lafoensia pacari* (leaves and stems), *Myrsine emarginella* (leaves), *Norantea adamantium* (aerial parts), *Qualea dichotoma* (aerial parts), *Salvertia convallariodora* (leaves and stems), *Schefflera macrocarpa* (leaves), *Vochysia elliptica* (aerial parts) e *Zeyheria Montana* (aerial parts). They were obtained by maceration and dry out using a rotary evaporator. The toxicity from normal mammalian cells was assessed using mouse fibroblasts (L929 lineage). The evaluation of anti trypanosomatid activities was performed on promastigotes of *Leishmania* strains BH46 (*Leishmania*) *infantum*, *Leishmania* M2269 (*Leishmania*) *amazonensis* and against epimastigotes of Y and Colombian strains of *Trypanosoma cruzi*. The antitumoral activity was performed on MDA-MB-231 lineage. The evaluation of the toxicity on cell lines and parasites was performed by the colorimetric MTT technique. The antibacterial activity was assessed about the species *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes* e *Pseudomonas aeruginosa* using the resazurin technique. In citotoxicity assay all extracts have shown some toxicity to normal cells of mammals L929 lineage. Antitumoral activity was observed for 22 extracts, being the most active the extract of aerial parts of *Ageratum fastigiatum*. Trypanocidal activity was observed for seven extracts against the Y strain and eight extracts against Colombian strain, among them the most active is the aerial parts of *Ageratum*

fastigiatum and aerial parts of *Zeyheria montana*. Leishmanicidal activity was observed for 11 extracts against M2269 strain of *Leishmania amazonensis* and three against BH46 strain of *Leishmania infantum*, being the most active the extract from aerial parts of *Ageratum fastigiatum*. Antibacterial activity was identified for 11 extracts, the most active were the *Ageratum fastigiatum* (aerial parts) and *Byrsonima lancifolia* (leaves), while the most susceptible bacteria, inhibited by the largest number of extracts, was *S. aureus* (9 extracts) and the less susceptible was *S. agalactiae* (1 extract). The results reveals that, the ethanol extracts of the aerial parts of *Ageratum fastigiatum* and *Zeyheria montana* are the most promising for further studies, representing a potential source of substances to leishmanicidal, tripanocidal and antitumoral activities, and extracts of *Ageratum fastigiatum* (aerial parts) and *Byrsonima lancifolia* (leaves) as antibacterial activity, being need to perform a fractionation of these extracts to identify the substances responsible for the activities and toxicity.

Keywords: Plants; leishmanicidal activity; trypanocidal activity; antitumor activity; antibacterial activity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Monocamada de células de mamíferos L929 imediatamente após a tripsinização 0h, 4h, 24h e 48h após a tripsinização e repique celular (aumento de 100X). Fotos tiradas usando a câmera para microscópio ocular digital (CMOS[®]) e imagens fornecidas a partir de um microscópio invertido (Medilux[®]).....83
- Figura 2:** Reação de oxi-redução do 3-[4,5-dimetiltiazol-2il]-2,5- difeniltetrazólio (MTT) em formazano após a conversão pela enzima succinato desidrogenase. Assay Guidance Manual (2015).....85
- Figura 3:** Monocamada de células tumorais MDA-MB-231 imediatamente após a tripsinização 0h, 4h, 24h e 48h após a tripsinização e repique celular (aumento de 100X). Fotos tiradas usando a câmera para microscópio ocular digital (CMOS[®]) e imagens fornecidas a partir de um microscópio invertido (Medilux[®]).....86
- Figura 4:** Epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* (cepa Colombina) na fase exponencial de crescimento, aumento de 10X, 20X e 40X, respectivamente. Fotos tiradas usando a câmera para microscópio ocular digital (CMOS) e imagens fornecidas a partir de um microscópio óptico (Olympus[®]).....89
- Figura 5:** Promastigotas de (*Leishmania*) *amazonensis* (WHO/BR/73/ M2269) na fase exponencial de crescimento, aumento de 10X, 20X e 40X, respectivamente. Fotos tiradas usando a câmera para microscópio ocular digital (CMOS) e imagens fornecidas a partir de um microscópio óptico (Olympus[®]).....89
- Figura 6:** Placa com meio BHI sólido (Brain Heart Infusion Broth, Himedia[®]) contendo colônias de *Staphylococcus aureus* (lado esquerdo da placa) e *Salmonella typhimurium* (lado direito da placa), 24 h após o repique.....92
- Figura 7:** Representação esquemática da microplaca de 96 poços utilizada na determinação da atividade antibacteriana e respectiva CIM (Concentração Inibitória Mínima).....93
- Figura 8:** Reação de oxi-redução da resazurina em resofurina após conversão pelas enzimas do sistema de transporte do metabolismo celular. Assay Guidance Manual (2015).....94
- Figura 9:** Curva de calibração da concentração celular da linhagem L929 obtida por meio da avaliação da correlação entre diferentes concentrações de células ($4,5 \times 10^5$ células/mL a 5×10^3 células/mL) e as absorbâncias obtidas a 540 nm, por meio da

avaliação da viabilidade celular, por meio da técnica de MTT, após 72h de incubação, 37 °C e atmosfera de 5% de CO₂. Os resultados foram obtidos em três experimentos e expressos em média ± desvio padrão.....97

Figura 10: Curva de calibração da concentração celular da linhagem MDA-MB-231 obtida por meio da avaliação da correlação entre diferentes concentrações de células (2,5x10⁵ células/mL a 5x10³ células/mL) e as leituras das absorbâncias obtidas a 540 nm, por meio da avaliação da viabilidade celular utilizando a técnica de MTT, após 72 h de incubação, a 37°C e atmosfera de 5% de CO₂. Os resultados foram obtidos em três experimentos e expressos em média ± desvio padrão.....97

Figura 11: Efeito citotóxico de diferentes concentrações de CdCl₂ sobre a linhagem de células L929, n=4. Células L929 (1x10⁵ células/mL) foram incubadas em RPMI suplementado e tratadas simultaneamente com CdCl₂ em concentrações de 11,25 µg/mL a 1440 µg/mL (m/v). Após 72h de incubação, a 37 °C e atmosfera de 5% de CO₂, o percentual de células viáveis foi avaliado pela técnica de MTT e a leitura das absorbâncias realizada a 540 nm. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão, *, a: diferenças estatísticas em relação ao controle, b: diferença em relação ao CdCl₂ 11,25 µg/mL, c: diferença em relação ao CdCl₂ 22,5 µg/mL, d: diferença em relação ao CdCl₂ 45 µg/mL, e: diferença em relação ao CdCl₂ 90 µg/mL e f: diferença em relação ao CdCl₂ 180 µg/mL; p ≤0,05. Letras diferentes significam diferenças significativas entre as viabilidades celulares obtidas nas diferentes concentrações testadas.....98

8

Figura 12: Efeito citotóxico de diferentes concentrações de paclitaxel sobre células MDA-MB-231. Células MDA-MB-231 (1,5x10⁵ células/mL) foram incubadas em meio RPMI suplementado e tratadas simultaneamente com paclitaxel em concentrações variando de 100 µg/mL a 5 µg/mL (m/v). Após 72h de incubação, a 37 °C e atmosfera de 5% de CO₂, o percentual de células viáveis foi avaliado pela técnica de MTT e leituras das absorbâncias a 540 nm foram registradas. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão, * p ≤0,05, com intervalo de confiança de 95%.....99

Figura 13: Efeito tóxico de 2400 µg/mL a 4,69 µg/mL de benzonidazol sobre epimastigotas da cepa Colombiana de *T. cruzi*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos,

feitos em quadruplicata (n=4). *: diferenças estatísticas em relação ao controle, a: diferença em relação ao benzonidazol 4,69 µg/mL, b: diferença em relação ao benzonidazol 4,69 µg/mL, c: diferença em relação ao benzonidazol 9,37 µg/mL, d: diferença em relação ao benzonidazol 18,75 µg/mL e e: diferença em relação ao benzonidazol 37,5 µg/mL; $p \leq 0,05$. Letras diferentes significam diferenças significativas entre as viabilidades celulares obtidas nas diferentes concentrações testadas.....100

Figura 14: Efeito tóxico de 32 µg/mL a 0,125 µg/mL de anfotericina B sobre promastigotas das cepas M2269 e BH46 de *Leishmania*. Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, feitos em quadruplicata (n=4). *: diferenças estatísticas em relação ao controle, a: diferença em relação à anfotericina 0,125 µg/mL, b: diferença em relação à anfotericina 0,250 µg/mL, c: diferença em relação à anfotericina 0,5 µg/mL; $p \leq 0,05$. Letras diferentes significam diferenças significativas entre as viabilidades celulares obtidas nas diferentes concentrações testadas.....100

Figura 15: Efeito citotóxico de DMSO em concentrações de 0,0625% a 8%, sobre as linhagens de células L929 e MDA-MB-231, formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* (cepas Colombiana e Y), promastigotas de *Leishmania* sp (cepa M2269 de *Leishmania amazonensis* e BH46 de *Leishmania chagasi*) e bactérias (*Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, feitos em quadruplicata (n=4) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI, DMEM ou LIT. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente.....103

Figura 16: Curvas de crescimento de formas epimastigotas das cepas Y (A) e Colombiana (B) do *Trypanosoma cruzi*. Os parasitas foram cultivados em meio Liver, Infusion, Tryptose – LIT, a 26°C, durante 15 dias. Os dados são relativos à média de três experimentos independentes (n=3).....105

Figura 17: Curvas de crescimento de promastigotas das cepas BH46 (A) e M2269 (B) de *Leishmania infantum* e *Leishmania amazonensis*, respectivamente. Os parasitas foram cultivados em meio Liver, Infusion Tryptose – LIT, a 26°C, durante 15 dias. Os dados são relativos à média de três experimentos independentes (n=3).....105

Figura 18: Monocamada de células tumorais L929 após tratamento com diferentes concentrações de extrato etanólico das partes aéreas de *Agarista oleifolia* (1000 µg/mL a 7,8 µg/mL) e 72h de incubação, em atmosfera de 5% de CO₂, a 37°C. Fotos captadas usando a câmera para microscópio ocular digital (CMOS®), aumento de 100X e imagens fornecidas a partir de um microscópio invertido (Medilux®).....106

Figura 19: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas de *Agarista oleifolia* frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....107

Figura 20: Avaliação da atividade antitripanossomatídeos do extrato etanólico das partes aéreas de *Agarista oleifolia* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....109

Figura 21: Teste de atividade antibacteriana em *S. aureus* utilizando a técnica de diluição em microplaca com determinação da CIM. **Concentração do extrato na microplaca:** linhas A e E - 1000 µg/mL; linhas B e F - 500 µg/mL; linhas C e G - 250 µg/mL e linhas D e H - 125 µg/mL. Linhas A, B, C e D: poços testes (Extrato etanólico + Bactéria). Linhas E, F, G e H: controle do meio (Extrato etanólico + CMH sem bactéria). Colunas 1, 2 e 3: extrato etanólico das folhas de *A. fastigiatum*; colunas 4, 5 e 6: poços controle colunas 7, 8 e 9: extrato etanólico do caule de *A. oleifolia* e colunas 10, 11 e 12: extrato etanólico das folhas de *S. macrocarpa*.....110

Figura 22: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas de *Ageratum fastigiatum* frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....112

Figura 23: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das partes aéreas de *Ageratum fastigiatum* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania* (M2269 e BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....115

Figura 24: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas de *Byrsonima verbascifolia* e *Byrsonima dealbata* e, *Byrsonima lancifolia* folha e caule frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....120

Figura 25: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das partes aéreas de *Byrsonima dealbata* e *Byrsonima verbascifolia* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes

concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....122

Figura 26: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas e do caule de *Byrsonima lancifolia* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....123

Figura 27: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico do caule de *Croton antispyhiliticus* frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....127

Figura 28: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico do caule de *Croton antispyhiliticus* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de três experimentos

feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....130

Figura 29: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas de *Gomphrena arborescens* e *Gomphrena scapigera*, do caule de *Gomphrena vaga* e das raízes de *Gomphrena virgata* frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....135

Figura 30: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico de das partes aéreas de *Gomphrena arborescens* e *Gomphrena scapigera* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....136

Figura 31: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico do caule de *Gomphrena vaga* e das raízes de *Gomphrena virgata* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os

resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....137

Figura 32: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas e do caule de *Kielmeyera lathrophyton*, e das partes aéreas de *Kielmeyera rubriflora* frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....140

Figura 33: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico do extrato etanólico das folhas e do caule de *Kielmeyera lathrophyton* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....142

Figura 34: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico do extrato das partes aéreas de *Kielmeyera rubriflora* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania* (M2269 e BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1

µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....143

Figura 35: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas e do caule de *Lafoensia pacari* frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....146

Figura 36: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas e do caule de *Lafoensia pacari* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....149

Figura 37: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de *Myrsine emarginella* frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....151

Figura 38: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas de *Myrsine emarginella* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e

Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....153

Figura 39: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas de *Norantea adamantium* frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular ± desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....155

Figura 40: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das partes aéreas de *Norantea adamantium* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....156

Figura 41: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas de *Qualea dichotoma* e *Vochysia elliptica* e, das folhas e caule de *Salvertia convallariodora* frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até

oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....158

Figura 42: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das partes aéreas de *Qualea dichotoma* e *Vochysia elliptica* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....161

Figura 43: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas e caule de *Salvertia convallariodora* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....162

Figura 44: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de *Schefflera macrocarpa* frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata

(n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....164

Figura 45: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das folhas de *Schefflera macrocarpa* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....167

Figura 46: Avaliação da citotoxicidade do extrato etanólico das partes aéreas de *Zeyheria Montana* frente a células de fibroblasto de camundongo (L929) e células tumorais (MDA-MB-231). Foram utilizadas concentrações seriadas dos extratos até oito diluições (1000 a 7,8 µg/mL). Os resultados foram expressos como média do percentual de viabilidade celular \pm desvio padrão de três experimentos, realizados em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte celular RPMI com DMSO a 0,125%. *, ** e *** correspondem a diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, considerando intervalo de confiança de 95%.....169

Figura 47: Avaliação da atividade tripanocida do extrato etanólico das partes aéreas de *Zeyheria Montana* frente a formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepas Y e Colombiana) e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa M2269) e *Leishmania chagasi* (cepa BH46). Foram utilizadas diferentes concentrações seriadas do extrato (1000 µg/mL até 125 µg/mL), sendo os parasitos expostos por 72h, a 26°C. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos feitos em triplicata (n=3) e estes foram comparados com os resultados obtidos para o controle negativo de morte LIT:DMSO a 0,125% e com os fármacos padrões Benzonidazol a 75 µg/mL e Anfotericina B a 1 µg/mL. *, ** e *** correspondem a

diferenças significativas com $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,0001$, respectivamente, com intervalo de confiança de 95%.....171

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1: Abordagem etnobotânica das espécies utilizadas nos experimentos..... | 40 |
| Tabela 2: Especificações da coleta, identificação e depósito dos <i>Vouchers</i> | 77 |
| Tabela 3: Espécies das plantas, famílias botânicas e partes utilizadas no preparo dos extratos..... | 81 |
| Tabela 4: Espécies de bactérias provenientes da coleção de cultura <i>American Type Culture Collection</i> (ATCC, Rochville, MD, USA)..... | 91 |
| Tabela 5: Percentual de viabilidade de células L929 e MDA-MB-231, formas epimastigotas de <i>Trypanosoma cruzi</i> , promastigotas de <i>Leishmania sp</i> e bactérias obtidos em preparações com concentrações de DMSO de 0,0625% a 8%..... | 102 |

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

µg: Micrograma

µL: Microlitro

µm: Micrômetro

µM: Micromol

AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

ANOVA: Análise de variância

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC: American Type Culture Collection

B.O.D.: Demanda Bioquímica de Oxigênio

BHI: Brain Heart Infusion Broth

CBM: Concentração Bactericida Mínima

CC₅₀: Concentração citotóxica a 50%

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMH: Caldo Muller Hinton

CNPq: Conselho Nacional de Pesquisa

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's Medium

DMSO: Dimetilsulfóxido

DTU: Discrete Typing Units

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay

EUA: Estados Unidos da América

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz

g: Grama

GBS: *Streptococcus* do Grupo B

HDJF: Herbário Dendrológico Jeanine Felfili

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

IC₅₀: Concentração necessária para promover 50% de inibição da viabilidade

ICMBIo: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

INCA: Instituto Nacional do Câncer

IS: Índice de Seletividade

ITU: Infecções do Trato Urinário

LAPEPE: Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco

LC: Leishmaniose Cutânea
LCD: Leishmaniose cutânea difusa
LIMP: Laboratório de Imunoparasitologia
LIT: Liver Infuse Tryptose
LMC: Leishmaniose mucocutânea
LPCM: Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular
LT: Leishmaniose Tegumentar
LTA: Leishmaniose Tegumentar Americana
LV: Leishmaniose Visceral
m: Metro
M: Molar
MDR: Multidrug Resistance
MDRST: Multiple Drug Resistant Salmonella
mg: Miligrama
mL: Mililitro
mm: Milímetro
mM: Milimolar
MMA: Ministério do Meio Ambiente
MTT: Brometo de 3-(4,3-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio
NEPRONAT: Laboratório do Núcleo de Estudos de Produtos Naturais
nm: Nanômetro
°C: Graus Celsius
OMS: Organização Mundial da Saúde
PBS: Posphate Buffered Saline
RPMI: Roswell Park Memorial Institute
SDS: Dodecil Sulfato de Sódio
SFB: Soro Fetal Bovino
UFC: Unidade Formadora de Colônia
UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais
UFOP: Universidade Federal de Ouro Preto
UFVJM: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
UNISINOS: Universidade do Vale do Rio dos Sinos
WHO: World Health Organization

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 32 |
| 2 OBJETIVOS..... | 35 |
| 2.1 Objetivo geral..... | 35 |
| 2.2 Objetivos específicos..... | 35 |
| 3 REVISÃO DA LITERATURA..... | 36 |
| 3.1 O cerrado brasileiro: biodiversidade, características e uso medicinal..... | 36 |
| 3.2 O Uso das plantas do cerrado no tratamento das doenças humanas..... | 37 |
| 3.3 Doenças Humanas: importância epidemiológica, problemas relacionados ao tratamento e plantas como alternativas terapêuticas..... | 47 |
| 3.3.1 A Doença de Chagas..... | 47 |
| 3.3.2 As Leishmanioses..... | 51 |
| 3.3.3 Câncer..... | 56 |
| 3.3.4 Infecções Bacterianas..... | 58 |
| 3.3.4.1 Bactérias Gram-negativas..... | 59 |
| 3.3.4.1.1 <i>Salmonella typhimurium</i> | 59 |
| 3.3.4.1.2 <i>Klebsiella oxytoca</i> | 60 |
| 3.3.4.1.3 <i>Escherichia coli</i> | 61 |
| 3.3.4.1.4 <i>Proteus mirabilis</i> | 62 |
| 3.3.4.1.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 63 |
| 3.3.4.2 Bactérias Gram-positivas..... | 64 |
| 3.3.4.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i> | 64 |
| 3.3.4.2.2 <i>Listeria monocytogenes</i> | 66 |
| 3.3.4.2.3 <i>Streptococcus agalactiae</i> | 67 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 70 |
| 4.1 Equipamentos e Soluções..... | 70 |
| 4.1.1 Equipamentos..... | 70 |
| 4.1.2 Soluções empregadas nos ensaios biológicos..... | 71 |
| 4.1.2.1 Solução de SDS 10% em álcool isopropílico..... | 71 |
| 4.1.2.2 Solução de antibióticos..... | 71 |
| 4.1.2.3 Solução de resazurina 0,01%..... | 71 |
| 4.1.2.4 Solução de salina..... | 71 |
| 4.1.2.5 Preparo ágar sangue NNN..... | 72 |

| | |
|--|----|
| 4.1.2.6 Tampão fosfato-salino (PBS 1X)..... | 72 |
| 4.1.2.7 Solução de Cloreto de Cádmio (CdCl ₂) 20 mM..... | 72 |
| 4.1.2.8 Solução estoque de Azul de Trypan 0,4 %..... | 72 |
| 4.1.2.9 Solução de (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina) MTT..... | 73 |
| 4.1.2.10 Solução de Tripsina 10X..... | 73 |
| 4.1.2.11 Meio de cultura RPMI Suplementado (<i>Roswell Park Memorial Institute</i>) suplementado..... | 73 |
| 4.1.2.12 Meio DMEM (<i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>) suplementado..... | 73 |
| 4.1.2.13 Meio LIT (<i>Liver Infusion Tryptose</i>) suplementado..... | 74 |
| 4.1.2.14 Caldo Muller Hinton (CMH)..... | 74 |
| 4.1.2.15 Meio sólido Brain Heart Infusion Broth (BHI)..... | 75 |
| 4.1.2.16 Solução de Cloranfenicol 30 µg/mL..... | 75 |
| 4.1.2.17 Solução de Hemina 10 mg/mL..... | 75 |
| 4.1.2.18 Solução de Anfotericina B 1 µg/mL..... | 75 |
| 4.1.2.19 Solução de Benzonidazol 75 µg/mL..... | 76 |
| 4.1.2.20 Solução de paclitaxel 35 µg/mL..... | 76 |
| 4.2 Material vegetal..... | 76 |
| 4.2.1 Coleta e identificação taxonômica..... | 76 |
| 4.2.2 Preparo dos extratos brutos..... | 80 |
| 4.3 Avaliação das atividades Biológicas..... | 81 |
| 4.3.1 Testes de citotoxicidade..... | 82 |
| 4.3.1.1 Linhagem Celular Utilizada e Manutenção..... | 82 |
| 4.3.1.2 Padronização do inóculo e controle..... | 84 |
| 4.3.1.3 Ensaio de toxicidade sobre células L929..... | 84 |
| 4.3.2 Avaliação da atividade antitumoral..... | 86 |
| 4.3.2.1 Linhagens celulares e Manutenção..... | 86 |
| 4.3.2.2 Padronização do inóculo e controle positivo..... | 86 |
| 4.3.2.3 Ensaio de toxicidade sobre células MDA-MB-231..... | 87 |
| 4.3.3 Avaliação da atividade anti-tripanosomatídeos..... | 88 |
| 4.3.3.1 Cepas e Manutenção..... | 88 |
| 4.3.3.2 Obtenção das Curvas de Crescimento..... | 89 |
| 4.3.3.3 Avaliação da atividade tripanocida..... | 90 |

| | |
|--|-----|
| 4.3.3.4 Avaliação da atividade leishmanicida..... | 91 |
| 4.3.4 Avaliação da atividade antibacteriana..... | 91 |
| 4.3.4.1 Espécies e manutenção..... | 91 |
| 4.3.4.2 Ensaio de atividade antibacteriana dos extratos..... | 92 |
| 4.4 Parâmetros para seleção de plantas com atividades biológicas promissoras: determinação e avaliação da IC ₅₀ , do Índice de Seletividade, da Eficácia e da Concentração Inibitória Mínima..... | 94 |
| 4.5 Análise Estatística..... | 95 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 95 |
| 5.1 Padronização dos experimentos..... | 96 |
| 5.1.1 Ensaios de citotoxicidade e atividade antitumoral: padronização do inóculo de células L929 e MDA-MB-231 para avaliação da viabilidade celular..... | 96 |
| 5.1.2 Padronização das concentrações de fármaco padrão e controle de morte celular..... | 98 |
| 5.1.3 Determinação da concentração de DMSO para dissolução dos extratos..... | 101 |
| 5.1.4 Curvas de crescimento epimastigota de <i>T. cruzi</i> e promastigotas de <i>Leishmania</i> <i>sp.</i> | 103 |
| 5.2 Avaliação das atividades biológicas..... | 105 |
| 5.2.1. <i>Agarista oleifolia</i> (Ericaceae)..... | 106 |
| 5.2.2 <i>Ageratum fastigiatum</i> (Asteraceae)..... | 111 |
| 5.2.3 Família Malpighiaceae: espécies <i>Byrsonima verbascifolia</i> , <i>Byrsonima dealbata</i> e <i>Byrsonima lancifolia</i> | 118 |
| 5.2.4 <i>Croton antisiphiliticus</i> (Euphorbiaceae)..... | 126 |
| 5.2.5 Família Amaranthaceae: espécies <i>Gomphrena arborescens</i> , <i>Gomphrena</i> <i>scapigera</i> , <i>Gomphrena vaga</i> e <i>Gomphrena virgata</i> | 133 |
| 5.2.6 Família Clusiaceae: <i>Kielmeyera lathrophyton</i> e <i>Kielmeyera rubriflora</i> | 139 |
| 5.2.7 <i>Lafoensia pacari</i> (Lythraceae)..... | 145 |
| 5.2.8 <i>Myrsine emarginella</i> (Primulaceae)..... | 151 |
| 5.2.9 <i>Norantea adamantium</i> (Marcgraviaceae)..... | 154 |
| 5.2.10 Família Vochysiaceae: espécies <i>Qualea dichotoma</i> , <i>Vochysia elliptica</i> e <i>Salvertia convallariodora</i> | 157 |
| 5.2.11 <i>Schefflera macrocarpa</i> (Araliaceae)..... | 163 |
| 5.2.12 <i>Zeyheria montana</i> (Bignoniaceae)..... | 168 |

| | |
|--|-----|
| 6. SELEÇÃO DE PLANTAS MAIS PROMISSORAS FRENTE A ATIVIDADES INVESTIGADAS..... | 174 |
| 7. CONCLUSÕES..... | 178 |
| 8. PERSPECTIVAS..... | 181 |
| REFERENCIAS..... | 182 |
| ANEXO A..... | 250 |
| ANEXO B..... | 254 |
| ANEXO C..... | 262 |